

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 62-130679

(43)Date of publication of application : 12.06.1987

(51)Int.Cl.

C12N 1/20
// A23B 4/00
(C12N 1/20
C12R 1:225)

(21)Application number : 60-270813

(71)Applicant : KARUPISU SHOKUHIN KOGYO KK

(22)Date of filing : 03.12.1985

(72)Inventor : SUZUKI YASUSUKE
SUZUKI KANEO

(54) NOVEL LACTIC ACID BACTERIA

(57)Abstract:

PURPOSE: To suppress the propagation of toxic microorganisms, e.g. Staphylococcus aureus, etc., in an unheated cattle meat product, etc., and improve preservation stability of the product, by using novel lactic acid bacteria designated as Lactobacillus C-590 and having halotolerance and low-temperature growth property.

CONSTITUTION: Novel lactic acid bacteria designated as Lactobacillus C-590 which are representative strains (FERM-P No.8383). The mycological properties of the Lactobacillus C-590 are as follows: (1) Gram-positive. (2) Asporogenic. (3) Bacilli. (4) No motility. (5) Facultative anaerobic. (6) Catalase; Negative. (7) Gas formation from glucose; Negative. (8) Growth temperature range; 8W42° C. (9) Rotatory power of lactic acid formed from saccharide; DL type. (10) Formation of acid from saccharide; Negative to lactose and rhamnose. (11) Sodium chloride resistance; Growable at 10%.

⑪ 公開特許公報(A) 昭62-130679

⑫ Int.Cl.⁴ 識別記号 庁内整理番号 ⑬ 公開 昭和62年(1987)6月12日
 C 12 N 1/20 7115-4B
 // A 23 B 4/00 7110-4B
 (C 12 N 1/20
 C 12 R 1:225)

審査請求 未請求 発明の数 1 (全5頁)

⑭ 発明の名称 新規乳酸菌

⑮ 特 願 昭60-270813

⑯ 出 願 昭60(1985)12月3日

⑰ 発 明 者 鈴 木 庸 介 千葉市西都賀1-11-12
 ⑱ 発 明 者 鈴 木 謙 夫 埼玉県南埼玉郡白岡町西2-5-12
 ⑲ 出 願 人 カルビス食品工業株式 東京都渋谷区恵比寿西2-20-3
 会社
 ⑳ 代 理 人 田 中 瑞 穂

明 細 書

1. 発明の名称

新規乳酸菌

2. 特許請求の範囲

下記の菌学的性質を有する新規乳酸菌ラクトバ
 チルス・C-590 (Lactobacillus C-590)

- (1) グラム陽性
- (2) 無芽胞
- (3) 桿菌
- (4) 運動性なし
- (5) 通性嫌気性
- (6) カタラーゼ：陰性
- (7) グルコースからのガス生成：陰性
- (8) 生育温度範囲：8〜42℃
- (9) 糖からの生成乳酸の発光性：D L型
- (10) 糖からの酸生成：
 ラクトース、ラムノースは陰性
- (11) 塩化ナトリウム耐性：10%で生育可能

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は新規乳酸菌ラクトバチルス・C-590 (Lactobacillus C-590)に関するものである。
 更に詳細には、本発明は耐塩性と低温生育性の両性質を有し、有害細菌の生育を抑制する性質も兼ね備えた、食品工業、医薬品工業等において広い用途を有する新規乳酸菌に関するものである。
 (発明が解決しようとする問題点)

各種野菜類及び非加熱食品類、例えば漬物、サラダ、畜肉製品等において、サルモネラ菌、黄色ブドウ球菌、大腸菌等の有害微生物の繁殖を抑制することは大きな課題である。特に非加熱畜肉製品(ラックスハム、ベーコン、スモークドビーフ、セミドライソーセージ、ソフトサラミソーセージ、レバーペースト、ドライソーセージ、サラミソーセージ、ジャーキー等)において、有害微生物を殺菌剤、抗菌剤を添加使用することなく有用微生物を用いることにより抑制できれば、畜肉加工産業において大きな価値を有する。したがって

耐塩性及び低塩生育性のある乳酸菌であって、かつ高塩濃度製品における有害微生物の繁殖を抑制し、更に風味改善に寄与するような乳酸菌の開発は産業界から強く要望されている。

(従来技術)

耐塩性と低塩生育性の両性質を備えた乳酸菌としては、下記のもの知られている。ストレプトコッカス・フェカリス (*Streptococcus faecalis*)、ストレプトコッカス・フェシウム (*Streptococcus faecium*)、ペディオコッカス・ハロフィルス (*Pediococcus halophilus*)、ペディオコッカス・アシディラクタシ (*Pediococcus acidilactici*)、ペディオコッカス・ペントサセウス (*Pediococcus pentosaceus*)、ラクトバチルス・プランタラム (*Lactobacillus plantarum*) 等が挙げられる。

(問題点を解決するための手段)

本発明者は、従来の乳酸菌と異なる耐塩性及び低塩生育性を有する乳酸菌を探索すべく種々検討の結果、市肉から分離した乳酸菌が畜肉製品

等の保存に有効かつ風味改善に寄与する乳酸菌であり、更にこの菌が既知の乳酸菌のいずれにも該当しない新種であることを見出し、本発明を完成したものである。

すなわち、本発明はラクトバチルス・C-590 (*Lactobacillus C-590*) と命名した新規乳酸菌に係るものである。本発明の代表菌株としては、ラクトバチルス・C-590 (*Lactobacillus C-590*) (農工研菌第83383号) が挙げられる。本菌は市販市肉製品の小片約2gを滅菌生理食塩水10mlへ懸濁し、この懸濁液より1白金耳をAPT寒天培地(食塩5.5%添加)上へ塗抹し、30℃、2日間培養して出現した特徴的コロニーより釣出し分離したものである。次にラクトバチルス・C-590の菌学的性質を以下に示す。

(A) 菌の形態

B L寒天平板培地に於て、30℃、2日間培養したときの菌の形態

(1) 細胞の大きさ: 1.0 ~ 1.5 × 1.5 ~ 8.0 μm

3

4

(2) 細胞の形状 : 桿状

(3) 運動性 : なし

(4) 芽胞形成 : なし

(5) グラム染色 : 陽性

(B) 各培地における生育状態

(1) B L寒天平板培地へ菌を塗抹し、30℃、2日間嫌気培養したときのコロニー形態

形状: 円形 大きさ: 0.8 ~ 1.5mm (直径)

隆起: 凸円状 色調: 灰白色で不透明

周縁: 円滑 表面: 円滑で光沢なし

(2) Briggs寒天平板培地へ菌を塗抹し、30℃、2日間嫌気培養したときのコロニー形態

形状: 円形 大きさ: 0.6 ~ 1.0mm (直径)

隆起: 凸円状 色調: 黄白色で半透明

周縁: 円滑 表面: 円滑で光沢あり

(3) Briggs寒天穿刺培養 (30℃, 1 ~ 2日間)
線状に生育

(4) APT液体静置培養 (30℃, 1 ~ 2日間)
凝濁し、底部に沈渣を生じる。

(5) Briggs Liver 液体静置培養 (30℃, 1 ~

2日間)

凝濁し、底部に沈渣を生じる。

(C) 生理学的性質

(1) 生育温度: 至適温度 25 ~ 30℃

生育範囲 8 ~ 42℃

(2) 生育pH: 至適 pH 6.2 ~ 8.8

生育範囲 pH 4.2 ~ 8.3

(3) 酸素に対する態度: 過性嫌気性、好気下でも生育するが、CO₂ガス存在下の方が生育良好

(4) 硝酸塩を還元せず

(5) 脱窒反応: 陰性

(6) M Hテスト: 陽性

(7) V Pテスト: 陰性

(8) インドールの生成: 生成せず

(9) 硫化水素の生成: 生成せず

(10) デンプン加水分解: 陰性

(11) ウレアーゼ: 陰性

(12) オキシゲナーゼ: 陰性

(13) カタラーゼ: 陰性

(14) セラチンの液化: 陰性

- (15)リトマスミルカ：不変
 (16)グルコースからのガス生成：陰性
 (17)塩化ナトリウム耐性：10%で生育し、
 12%で生育せず
 (18)糖からの生成乳酸の発光性：D L型
 (19)糖類からの糖の生成：

アラビノース	-	ラクトース	-
キシロース	-	トレハロース	-
ラムノース	-	メリビトース	-
リボース	+	ラフィノース	-
グルコース	+	メレチトース	-
マンノース	+	デンプン	-
フラクトース	+	マンニトール	-
ガラクトース	+	ソルビトール	-
シュクロース	+	エスクリン	+
マルトース	+	サリシン	+
セロビオース	+	アミグダリン	+

(+：陽性 -：陰性)

以上の如くラクトバチルス・C-590はグラ

ム陽性、無芽胞、通性嫌気性、カタラーゼ陰性の桿菌であり、またグルコースからD L型乳酸の生成は見られるが、ガスを生成しないことより、ホモ発酵型のラクトバチルス属乳酸菌と認められる。

また本菌は15℃でも生育することから、ラクトバチルス属の亜属としてストレプトバクテリウム (*Streptobacterium*) に分類される。ストレプトバクテリウムに属する菌種は、次の13種に分類されている。(「パーフェクト マニュアル オブ デターミネーティブ バクテリオロジー 第8版」(1974年)「ザ プロカリオティス 第2巻」(1981年))

すなわちラクトバチルス (以下L. と記する)
 ・プラントラム (*L. plantarum*)、L. カゼイ
 サブスピーシーズ (以下ss. と記する) アラクト
 サス (*L. casei* ss. *lactosus*)、L. カゼイ
 ss. ラムノサス (*L. casei* ss. *rhamnosus*)
 L. カゼイ ss. トレランス (*L. casei* ss. *tolerans*)、L. カゼイ ss. カゼイ (*L. casei* ss.

7

casei)、L. カゼイ ss. シュードプラントラム (*L. casei* ss. *pseudoplantarum*)、L. キシロサス (*L. xylosum*)、L. クルバタス (*L. curvatus*)、L. コリニホルミス (*L. coryniformis*)、L. ホモヒオチ (*L. homohiochii*)、L. ヤマナシエンシス (*L. yamanashiensis*)、L. ファルシミニス (*L. farciminis*)、L. アリメンタリウス (*L. alimentarius*)である。

前記「パーフェクト マニュアル オブ デターミネーティブ バクテリオロジー 第8版」(1974年)及び「ザ プロカリオティス 第2巻」(1981年)の記載、更に「アイディンティフィケーション・メソッド・マイクロバイオロジスト・パートA」(1986年)及び「腸内菌の世界」光岡知足著、森文社(1980年)に記載されたラクトバチルス属のストレプトバクテリウム亜属に分類される公知菌株の菌学的性質と、本発明の代表菌株であるラクトバチルス・C-590の菌学的性質との対比を表に示す。なお表中の「セロビオース及びマンニトールからの糖

8

菌 株 名	45℃ での生育	乳糖 の発性	マニニトール からの発性	糖 酸 生 成											
				ア ラ ビ ノ ース	セ ロ ビ ノ ース	ガ ラ ク ト ース	ラ ク ト ース	マ ル ニ ト ール	の メ ニ ト ール	メ レ ビ ノ ース	ラ フ イ ノ ース	リ ボ ース	キ シ ロ ース	エ ス ク リ ン	
L. homohiochii	-	D (-)	セロビオース (-)	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
L. coryniformis ss. torquans	-	D (-)	マンニトール (+)	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
L. coryniformis ss. coryniformis	-	D L		-	-	+	-	+	+	-	d	d	-	-	d
L. yamanehiensis	-	*	セロビオース (d) マンニトール (-)	+	-	d	±	-	+	-	-	-	+	-	+
L. curvatus	-	D L		-	-	+	+	d	+	-	-	-	+	+	+
L. casei ss. tolerans	*	L (+)	セロビオース (+)	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
L. farcimilis	-	L (+)	マンニトール (-)	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+
L. alimentarius	-	L (+)		+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+
L. xylosum	-	L (+)		+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+
L. casei ss. electosus	-	L (+)		+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+
L. casei ss. casei	-	L (+)	セロビオース (+)	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
L. casei ss. rhamnosus	+	L (+)	マンニトール (+)	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
L. casei ss. pseudoplantarum	*	D L		+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
L. plantarum	±	D L		+	d	+	+	+	+	d	+	+	+	d	+
L. C-590	-	D L	セロビオース (+) マンニトール (-)	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+

+; 陽性 -; 陰性 ±; 弱陽性 d; 不定 *; 不明

10

成性」の項は、前記「腸内菌の世界」光岡知足著、121頁、震文社(1980年)に記載されている如く、菌種を区分するために使われている要素の一つである。

前表から明らかなように、木発明菌は、菌学的諸性質においてラクトバチルス属のストレプトバクテリウム亜属に分類される公知菌のいずれとも異なる。厚さ、セロビオースより酸を生成し、マンニトールより酸を生成しないという木発明菌の特性を有する公知菌は、*L. クルバタス*、*L. カゼイ* ss. *トレランス*、*L. フアルシミニス*及び*L. アリメンタリウス*の4種である。この4種のうち45℃で生育せず、乳糖の発光性D L型の性質を示すものは、*L. クルバタス*のみである。

しかし*L. クルバタス*は、桿形に彎曲した細胞形状を示すことが特徴的な単桿菌である。一方木発明菌は、棍棒状短桿菌であり、細胞形状において*L. クルバタス*とは異なる。さらに糖からの酸生成においても木発明菌と*L. クルバタス*とは、ラクトース、アミタグリ、ラムノースにおい

て異なる。

以上の理由により木発明菌は、公知菌種のいずれにも該当せず、新菌種である。

ラクトバチルス・C-590は低温生育性が良好で、液体培地に於て10℃、5日間で生育停止期に達する。本菌は、A P T、M R S、Briggs Liver、B L等の培地で良好な生育を示す。更に本菌は、食塩濃度10%においても生育可能である。

(実施例1) 培養例

酵母エキス75g、ペプトン125g、グルコース100g、クエン酸ナトリウム50g、塩化ナトリウム50g、リン酸水素2カリウム50g、塩化マンガン1.4g、硫酸マグネシウム8g、硫酸第1鉄0.4g、ソルビタンモノオレイン酸コンプレックス2g、チアミン塩酸塩0.001g、水10Lからなる培地(pH8.5)を121℃、15分間滅菌した後30℃に冷却した。同一組成の培地により予め30℃、20時間前培養したラクトバチルス・C-590の菌培養液500mlを

前記培地 10 L に接種し、30℃、20 時間静置培養した。更に同一組成培地 1000 L を 90℃、30 分間滅菌後 30℃ に冷却し前記培養液 10.5 L を接種し 30℃、20 時間静置培養した。培養終了時の生菌数は 8.5×10^8 個/L であった。

培養終了の培養液をシャープレス型遠心分離機 (15000 r.p.m., 13200 G) により集菌し、菌体濃縮物を 90℃、30 分間滅菌済生食塩水 200 L に懸濁し、再度前記遠心分離機により集菌した。得られた菌体濃縮物を脱脂粉乳 10% (w/w)、グルタミン酸ソーダ 1% (w/w) からなる溶液 (予め 115℃、15 分間滅菌しておく) 20 L に再懸濁し、常法に従って真空凍結乾燥した。得られた乾燥粉末 3.02 kg 中に木菌は、

2.5×10^{11} 個/g 含まれていた。

(実施例 2) … 応用例

市販豚赤身肉 450 g、牛赤身肉 300 g、豚脂 250 g、食塩 25 g、グルコース 2.5 g、硝酸カリウム 0.5 g、亜硝酸ナトリウム 0.14 g 及び実施例 1 で得た木菌を含有する粉末 0.01 g とスタッフ

イロコカス・オウレウス IID-980 (エンテロキシン生産株) の普通ブイヨン培地培養液 (30℃、24 時間培養、生菌数 $1.0 \times$

10^9 個/L) を生理食塩水で 1000 倍に希釈しその希釈液 10 ml をサイレントカッターにて均一に混合する。

この均一混合物中には木菌が 2.4×10^9 個/g 及びスタフィロコカス・オウレウスが $1.0 \times$

10^8 個/g 含まれていた。これを 18℃ にて 3 日間熟成させたとき、木菌は 4.6×10^9 個/g に増加しスタフィロコカス・オウレウスは 1.0×10^8 個/g 以下となった。このときの PH は、5.2 を示した。このように木菌は、有害微生物であるスタフィロコカス・オウレウスの繁殖を抑制する作用を有することが確認できた。

(発明の効果)

本発明菌であるラクトバチルス・C-590 は非加熱畜肉製品等において黄色ブドウ球菌等の有害微生物の繁殖を抑制し、該製品の保存安定性に寄与する菌種である。また木菌を各種畜肉製品製

1 23

造時にスターターとして添加熟成した場合、風味改善効果も顕著である。

以上木菌は、公知のラクトバチルス属菌種のいずれにも該当しない新種であり産業上きわめてすぐれた性質を有する乳酸菌である。

代理人 田中 瑞雄

1 24